

DOI:10.12171/j.1000-1522.20230341

野生与栽培生境下沙氏鹿茸草根际土壤真菌群落多样性比较

罗桂生¹ 刘素贞¹ 李峰卿¹ 曾满生¹ 邹玉玲¹ 朱小毛¹ 周新华¹ 朱柯帆²

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业实验中心, 江西 分宜 336600; 2. 信丰县林木良种场, 江西 信丰 341600)

摘要:【目的】为解决沙氏鹿茸草人工栽培相对野生生境下生长不良的问题, 从根际土壤真菌角度出发, 探讨人工栽培下生长不良的原因。【方法】以1种人工栽培生境和3种野生生境(油茶林、栀子林、马尾松人工林)沙氏鹿茸草根际土壤真菌为研究对象, 采用野外调查、ITS高通量测序结合RDA、Mantel分析, 比较栽培与野生生境根际土壤真菌种群特征。【结果】4种生境沙氏鹿茸草根际土壤中共检测到真菌15门50纲139目299科644属, 其中优势真菌门均为子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)。优势属共27个, 马尾松人工林和油茶林下沙氏鹿茸草根际土壤中优势菌属均是古根霉属(*Archaeorhizomyces*), 栀子林根际土壤中优势菌属为*Saitozyma*, 人工栽培生境条件下优势菌属为白环蘑属(*Leucoagaricus*)。人工栽培生境下的沙氏鹿茸草根际土壤真菌群落组成与栀子林、油茶林、马尾松人工林有显著差异, 并且其丰富度指数(Chao1指数)显著低于栀子林生境。真菌群落结构主要受土壤碱解N和有机质的影响, 同时碱解N也是影响白环蘑属(*Leucoagaricus*)主要环境因子。【结论】栽培与野生生境下沙氏鹿茸草根际土壤真菌群落组成差异显著, 真菌群落结构主要受土壤碱解N和有机质的影响, 因此可通过施N肥等措施调控沙氏鹿茸草的生长。

关键词: 栽培; 群落多样性; 土壤真菌; 生境; 根际土壤; 沙氏鹿茸草; N肥

中图分类号: S151.9; [R282.2] 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2024)12-0053-10

引文格式: 罗桂生, 刘素贞, 李峰卿, 等. 野生与栽培生境下沙氏鹿茸草根际土壤真菌群落多样性比较[J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(12): 53-62. Luo Guisheng, Liu Suzhen, Li Fengqing, et al. Comparison of fungal community diversity in rhizosphere soil of *Monochasma savatieri* in wild and cultivated habitats[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(12): 53-62.

Comparison of fungal community diversity in rhizosphere soil of *Monochasma savatieri* in wild and cultivated habitats

Luo Guisheng¹ Liu Suzhen¹ Li Fengqing¹ Zeng Mansheng¹ Zou Yuling¹
Zhu Xiaomao¹ Zhou Xinhua¹ Zhu Kefan²

(1. Experimental Center of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fenyi 336600, Jiangxi, China;

2. Xinfeng County Forest Tree Breeding Farm, Xinfeng 341600, Jiangxi, China)

Abstract: [Objective] In order to solve the problem of poor growth of *Monochasma savatieri* in artificial cultivation compared with wild habitats, the reason for poor growth in artificial cultivation was explored from the perspective of rhizosphere soil fungi. [Method] Study subjects were fungi in rhizosphere soil of *Monochasma savatieri* in one artificially cultivated habitat and three wild habitats, namely *Camellia oleifera* forest, *Gardenia jasminoides* forest, and *Pinus massoniana* plantation. A field survey, ITS high-throughput sequencing, RDA, Mantel analysis were conducted to compare the population characteristics of fungi in rhizosphere soil of *Monochasma savatieri*. [Result] A total of 15 phyla, 50 classes, 139 orders, 299 families, and 644 genera of fungi were detected in the rhizosphere soil of *Monochasma savatieri* in the four

收稿日期: 2023-11-27 修回日期: 2024-11-28

基金项目: 中国林科院基本科研业务费专项资金(CAFYBB2022MB005), 国家重点研发计划(2023YFD2200903), 新余市科技计划项目余科发(2023)32号。

第一作者: 罗桂生。主要研究方向: 中草药仿生栽培。Email: 469139476@qq.com 地址: 336600 江西省新余市分宜县分宜镇钤山西路460号中国林业科学研究院亚热带林业实验中心。

责任作者: 李峰卿, 高级工程师。主要研究方向: 林下经济植物资源培育理论与技术。Email: lfqnjfu@163.com 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

habitats, with the dominant phyla being Ascomycota and Basidiomycota. There were a total of 27 dominant genera. The dominant fungal genus in rhizosphere soil of *Monochasma savatieri* under *Pinus massoniana* plantation and *Camellia oleifera* forest was *Archaeorhizomyces*, while the dominant fungal genus in rhizosphere soil of *Gardenia jasminoides* forest was *Saitozyma*. Under artificial cultivation conditions, the dominant fungal genus was *Leucoagaricus*. There were significant differences between fungal community structures of rhizosphere soil of *Monochasma savatieri* under artificial cultivation and wild habitats (*Gardenia jasminoides* forest, *Camellia oleifera* forest, and *Pinus massoniana* plantation). And its richness index (Chao1 index) was significantly lower than that of *Gardenia jasminoides* habitat. The fungal community structure was mainly affected by alkali-hydrolysable nitrogen and organic matter in soil, and alkali-hydrolysable nitrogen was also a major environmental factor affecting genus *Leucoagaricus*. [Conclusion] There is a significant difference in composition of soil fungal communities between cultivated and wild habitats of *Monochasma savatier*. The fungal community structure is mainly affected by alkali-hydrolysable nitrogen and organic matter in soil. So the growth of *Monochasma savatieri* can be regulated by measures such as applying nitrogen fertilizer.

Key words: cultivation; community diversity; soil fungi; habitat; rhizosphere soil; *Monochasma savatieri*; nitrogen fertilizers

沙氏鹿茸草(*Monochasma savatieri*)是玄参科鹿茸草属多年生草本植物,为中国和日本特有种,主要分布在我国东南部地区,包括江西、福建、湖南、浙江等省份,生长于沙质山坡和草丛中。沙氏鹿茸草以干燥全草入药,药材名为鹿茸草,具有清热解暑、凉血止血的功效,在临床上广泛用于治疗感冒、便血、月经不调、牙痛和乳痈等症状^[1]。由于其药效强大,导致市场需求快速增加。然而,作为中国传统的野生药用植物,近年来在调查中发现,其野生资源正在急剧减少^[2],在日本甚至已经被列为濒危植物种。有研究认为,沙氏鹿茸草野生资源的减少与沙氏鹿茸草的生物学特性有关,其半寄生特性和种子萌发率低的特点^[3]导致其天然繁殖能力较弱。此外,人为掠夺式的采挖以及生态环境的破坏更加直接地加剧了野生资源的减少,使得市场供需矛盾异常突出,极大限制了鹿茸草的临床运用。药用植物的人工栽培是解决野生资源减少的关键措施,也是实现其产业化的有效手段,当前已成熟地运用在人参(*Panax ginseng*)、当归(*Angelica sinensis*)、黄连(*Coptis chinensis*)等传统中草药上。针对林源中药沙氏鹿茸草人工栽培方面的问题,前人的研究相对较少。Zhang等^[4]尝试将再生植株转移至含有灭菌处理的蛭石基质的盆中遮阳培养,发现移栽成活率接近100%。上述研究仅关注的是移栽成容器苗的生长状况,缺乏对其野外人工移栽的研究。中国林业科学研究院亚热带林业实验中心的林下经济研究团队在前期沙氏鹿茸草野外人工栽培实验中发现,其栽培过程中存在着死亡率高,生长不良等问题,且栽培成活的沙氏鹿茸草经过2~3年的生长,依旧会出现生

长不良甚至死亡的现象,这可能与药用植物普遍存在的自毒效应有关,而影响药用植物自毒效应的关键因素是根际土壤真菌^[5]。

土壤真菌是土壤微生物的重要组成部分,直接参与土壤-植物养分的动态循环,在土壤生态过程中有着不可或缺的地位^[6]。土壤真菌在分解凋落物和土壤C、N的矿化中发挥着重要作用,能够影响植物养分的吸收^[7]。其中,有益的根际真菌能够增强植物根系活力,促进植物生长,增加植物产量,提高植物对病原菌的抗性^[8];相反,有害真菌会导致植物病害,抑制根系生长,抑制植物生长,导致植物死亡^[9]。由于真菌在土壤生态系统中的重要作用,研究人员已把真菌群落的多样性和结构作为土壤健康的生物学指标^[10],而且根际土壤真菌的群落多样性和功能已成为微生物分子生态研究的热点^[11],并广泛应用于药用植物^[12]。关于土壤微生物与沙氏鹿茸草间的研究相对较少,仅有郭军^[13]通过接种根内球囊霉发现其对沙氏鹿茸草渗透调节能力、抗氧化酶活性、土壤酶活性具有显著的促进作用,并且增强了幼苗的根长和侧根数,但该研究也局限于盆栽实验。因此,本研究拟从根际土壤真菌群落结构和多样性角度,对比人工栽培生境和野生生境下沙氏鹿茸草根际土壤真菌群落的差异,探讨野外人工栽培生境下生长不良的原因,以期为人工栽培提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 根际土壤样品采集

根据野生沙氏鹿茸草的自然分布特点,2020年

2月在江西分宜、江西安福、江西信丰3种野生生境和江西宜春1种栽培生境设置试验样地。2021年5月,于沙氏鹿茸草生长旺盛期,在3个野生生境和1个栽培生境下采集根际土,每个样本生物学重复4个。采集土壤样品时,按照采样地点、经纬度、海拔等进行详细记录、编号,具体样本采集地信息见表1。采用抖根法采集根际土壤样品,每个生境取

4丛沙氏鹿茸草进行抖根取样,取样时除去石块、植物根系等杂物,混合均匀后用灭菌自封袋密封,贴标签后置于冰盒中带回实验室。土样取样后,一部分自然风干过2 mm筛,常温保存,用于土壤理化性质的测量;另一部分土样装入无菌离心管中,用液N处理后保存在-80℃冰箱中,用于土壤微生物高通量测序。

表1 试验土壤样本来源信息

Tab. 1 Source information of experimental soil samples

| 生境 Habitat | 样本名称 Sample name | 采集地 Collection site | 林分类型 Stand type | 优势树种 Dominant tree species | 郁闭度 Canopy density | 坡度 Slope/(°) | 土壤类型 Soil type | 树龄/a Tree age/year | 经纬度 Latitude and longitude |
|------------------|---------------------|-------------------------|--|-----------------------------------|-----------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|-------------------------------|
| 野生 Wild | FY | 江西分宜 Jiangxi Fenyi | 梔子纯林 <i>Gardenia jasminoides</i> pure forest | 梔子 <i>Gardenia jasminoides</i> | 0.62 | 20 | 黄壤 Yellow soil | 3 | 114°45'36"E, 27°51'36"N |
| | AF | 江西安福 Jiangxi Anfu | 马尾松人工林 <i>Pinus massoniana</i> plantation | 马尾松 <i>Pinus massoniana</i> | 0.71 | 14 | 黄壤 Yellow soil | 20 | 114°10'48"E, 27°49'11"N |
| | XF | 江西信丰 Jiangxi Xinfeng | 油茶纯林 <i>Camellia oleifera</i> pure forest | 油茶 <i>Camellia oleifera</i> | 0.65 | 18 | 黄壤 Yellow soil | 5 | 114°57'36"E, 25°05'24"N |
| 栽培 Cultivated | YC | 江西宜春 Jiangxi Yichun | | | | 16 | 黄壤 Yellow soil | 3 | 114°26'24"E, 27°50'24"N |

1.2 根际土壤样品分析

土壤化学性质测定参考《土壤分析技术规范》^[4]进行,采用pH计测定土壤pH值,土水比(土壤质量和水分体积的比值)为1:10。采用重铬酸K氧化-容量法测定土壤有机质,采用烘干法测量土壤含水量,采用环刀法测量土壤容重,分别采用凯氏定N法和碱解扩散法测定全N和碱解N,采用碱溶-钼锑抗比色法测定土壤全P,采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定速效P,分别采用碱熔-火焰光度法和乙酸铵浸提-火焰光度法测定全K和速效K。

1.3 根际土壤DNA提取和扩增测序

土壤微生物总DNA的提取利用土壤基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司, DcP36),每个样本4个重复,采用1%琼脂糖凝胶检测提取的土壤微生物总DNA,保存于-80℃冰箱用于PCR扩增。PCR反应体系(50 μL):上、下游引物各1 μL,模板1 μL, 2 × Taq MasterMix 25 μL,补足ddH₂O至50 μL。PCR扩增条件:94℃ 5 min 预变性后,94℃ 30 s、55℃ 30 s、72℃ 30 s共30个循环,最后1轮循环完成后72℃延伸10 min。利用引物ITS1-F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS2-R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')对核糖体ITS1高变区进行测序,反应完毕后,用1%琼脂糖凝胶电泳检查扩增结果,目的片段进行琼脂糖凝胶回收,委托北京奥维森基因科技有限公司利用Illumina-MiSeq平台进行高通量测序。

1.4 数据处理与统计分析

土壤理化性质数据利用SPSS22.0进行统计分析,先进行正态分布和方差齐性检验,然后做单因素方差分析。不同生境的均值在5%水平下做Duncan多重比较。

对Miseq测序结果进行分析,运用Trimmomatic、Pear对Fastq数据进行质控,利用Flash对两端序列进行拼接,并去除Fasta序列的嵌合体。对获得的优质序列用QIIME 1.8.0进行OTU聚类和物种分类分析,并使用QIIME软件计算微生物群落的α多样性指数,群落多样性用Shannon指数和Simpson指数表示,Chao1指数表示土壤微生物群落的丰富度,Coverage指数表示测序深度。利用样本间生物学距离进行β多样性指数等分析,用Origin和R软件进行统计分析和作图。Venn图用于统计不同林分类型下沙氏鹿茸草根际土壤中独有和共有的OTU数目,不同颜色圆圈代表不同生境类型。使用Canoco 4.5软件进行冗余分析(redundancy analysis, RDA),分析不同环境因子与优势真菌菌群间的相关性,采用Mantel检验分析环境因子对真菌群落结构整体的影响。

2 结果与分析

2.1 不同生境下沙氏鹿茸草根际土壤理化性质

在所测定的理化性质中,速效K含量在4种生境内无显著差异,油茶林中土壤pH和全P含量(分

别为 5.24 和 0.38 g/kg)均显著高于其他生境类型 ($p < 0.05$), 各生境类型环境土壤 pH 值在 4.48 ~ 5.24, 均呈酸性(表 2)。土壤全 K 和有效 P 含量均以油茶林中最高, 分别为 21.02 g/kg 和 2.58 mg/kg, 以马尾松林中最低, 分别为 12.46 g/kg 和 0.46 mg/kg, 其中全 K 含量在各生境类型间差异均达显著水平; 根际土壤有机质含量以栀子林中最高(47.64 g/kg), 马尾松林和人工栽培林中次之, 分别为 41.36 和 39.82 g/kg, 3 种生境类型间差异不显著, 却显著高于油茶林。以人工栽培与其他 3 种野生生境对比发现, 人工栽培生境中全 N 含量高于 3 种野生生境, 显著高于栀子林和油茶林两种野生生境, 达到了 2.10 g/kg, 而全 P 和碱解 N 含量则明显比其他 3 种野生生境低, 分别为 0.25 g/kg 和 103.33 mg/kg。

2.2 不同生境下沙氏鹿茸草根际土壤真菌群落丰度

2.2.1 OTU 数

从 4 种不同生境下 16 个沙氏鹿茸草根际土壤样品中共获得 465 968 条真菌序列, 平均 29 123 条序列样。在 97% 的相似度水平下, 共得到 3 759 个 OTU, 归属于 15 门 50 纲 139 目 299 科 644 属中。不同生境下沙氏鹿茸草根际土壤得到的 OUT 数略

有不同, 平均 OTU 数为 583 ~ 703 个, 其中栀子林中根际土壤中的 OTU 最多, 人工栽培的根际土壤中 OTU 最少(图 1a)。不同生境下沙氏鹿茸草根际土壤包含共有的真菌群落 OTU 如图 1b 所示: 马尾松林和栀子林沙氏鹿茸草根际土壤共同含有 766 个 OUT, 马尾松林和油茶林共同含有 631 个 OUT, 栀子林和油茶林共含有 689 个 OUT, 而人工栽培生境与 3 种野生生境马尾松林、栀子林以及油茶林共有的 OUT 数分别为 477、605、441。从图 1b 中还可以看出, 人工栽培、马尾松林、栀子林和油茶林特有的 OUT 数分别为 665、364、562、612。

2.2.2 门、属水平真菌群落丰度

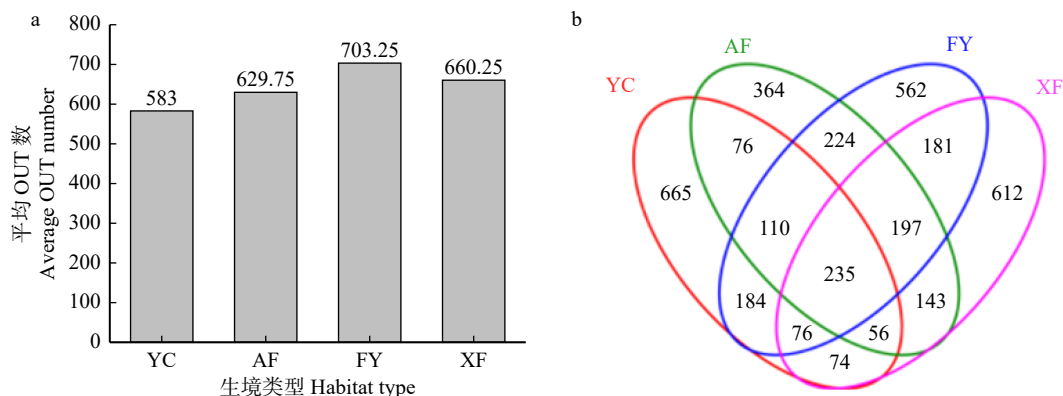
经 OTU 物种注释, 不同生境的 16 个根际土壤样品中共鉴定出 15 个真菌门和 644 个真菌属, 真菌群落分布格局具有一定的规律性。本研究选取相对丰度大于 1% 的物种作为优势真菌, 分别从门和属水平进行比较分析(图 2)。其中优势真菌门 6 个(图 2a), 子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)相对丰度在 4 种生境下均排前二, 且马尾松林、油茶林、栀子林 3 种野生生境根际土壤中, 子囊菌门的相对丰度均大于人工栽培, 而担子菌

表 2 不同生境根际土壤理化性质

Tab. 2 Physicochemical properties of rhizosphere soil in different habitats

| 生境类型 Habitat type | pH | 全量养分含量 Content of total nutrient/(g·kg ⁻¹) | | | | 速效养分含量 Content of available nutrient/(mg·kg ⁻¹) | | |
|---|--------------|---|---------------|---------------|---------------|--|--------------------|--------------------|
| | | 土壤有机质 Soil organic matter | 全N Total N | 全P Total P | 全K Total K | 碱解N Alkali-hydrolyzable N | 有效P Available P | 速效K Available K |
| 马尾松林 <i>Pinus massoniana</i> forest | 4.68 ± 0.08b | 41.36 ± 7.43a | 1.64 ± 0.13ab | 0.27 ± 0.01b | 12.46 ± 0.49d | 106.18 ± 20.37b | 0.46 ± 0.10c | 73.36 ± 5.35a |
| 栀子林 <i>Gardenia jasminoides</i> forest | 4.51 ± 0.36b | 47.64 ± 6.72a | 1.53 ± 0.19b | 0.32 ± 0.07b | 13.73 ± 1.04c | 126.71 ± 24.18ab | 1.79 ± 0.73b | 54.88 ± 8.93a |
| 油茶林 <i>Camellia oleifera</i> forest | 5.24 ± 0.15a | 28.41 ± 1.39b | 1.04 ± 0.08c | 0.38 ± 0.04a | 21.02 ± 1.10a | 151.13 ± 4.56a | 2.58 ± 0.27a | 62.66 ± 3.37a |
| 人工栽培 Artificial cultivation | 4.48 ± 0.06b | 39.82 ± 7.09a | 2.10 ± 0.17a | 0.25 ± 0.02b | 17.32 ± 0.70b | 103.33 ± 11.44b | 0.74 ± 0.06c | 67.83 ± 8.97a |

注: 不同字母表示组间差异显著($p < 0.05$)。Note: different letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).



YC. 人工栽培 Artificially cultivated; AF. 马尾松林 *Pinus massoniana* forest; FY. 栀子林 *Gardenia jasminoides* forest; XF. 油茶林 *Camellia oleifera* forest. 下同 Same as below.

图 1 4 种生境根际土壤真菌平均 OTU 数(a)和维恩图(b)

Fig. 1 Average OTU number (a) and Venn diagram (b) of rhizosphere soil fungi in four habitats

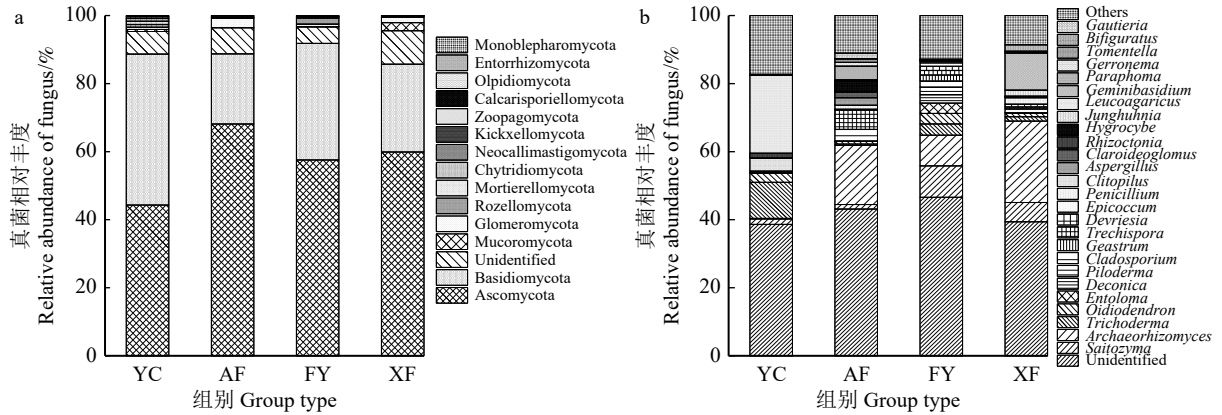


图 2 4 种生境根际土壤真菌群落门(a)、属(b)水平相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of fungal communities in rhizosphere soil of four habitats at phylum (a) and genus (b) level

门的相对丰度均小于人工栽培。

马尾松林、栀子林、油茶林和人工栽培所包含的真菌属分别有 329、411、321 和 393 个,但这些属中优势属分别只有 13、13、10 和 7 个,共 27 个优势属(图 2b)。在已知属中,马尾松林和油茶林下沙氏鹿茸草根际土壤中丰度最高的属是古根霉属(*Archaeorhizomyces*),其丰度分别为 17.35% 和 23.92%,栀子林土壤中 *Saitozyma*(9.25%)和古根霉属 *Archaeorhizomyces*(9.00%)丰度较高,而人工栽培的沙氏鹿茸草根际土壤中丰度最高的属为白环蘑属 *Leucoagaricus*(22.90%),其次为木霉属 *Trichoderma*(10.59%),而古根霉属 *Archaeorhizomyces* 丰度仅有 0.16%。

2.3 不同生境沙氏鹿茸草根际土壤真菌多样性

2.3.1 α 多样性

不同生境类型下沙氏鹿茸草根际土壤真菌多样性指数(Shannon 指数)差异不显著,人工栽培下沙氏鹿茸草根际土壤的丰富度指数(Chao1 指数)显著低于栀子林生境类型,而栀子林、马尾松林和油茶林 3 种生境类型间丰富度指数无显著性差异(表 3)。其中,油茶林下沙氏鹿茸草根际真菌群落 Simpson 指数和 Shannon 指数均最大,说明其真菌群落均匀度和多样性均最高,而人工栽培沙氏鹿茸草根际真菌群落均匀度和多样性均最低。栀子林下

沙氏鹿茸草根际真菌群落 Chao1 指数最大,表明其根际真菌群落中种类数目最多,相对的,人工栽培沙氏鹿茸草根际真菌群落的 Chao1 指数最低,表明其根际真菌群落中种类数目最少。土壤环境因子和 α 多样性指数的相关分析结果(图 3)表明,根际真菌群落中 Chao1 指数与根际土壤碱解 N 有显著的正相关关系。

2.3.2 β 多样性

基于 Bray-Curtis 距离分析,在 OTU 水平上的 PCoA 分析揭示了不同采样点的土壤真菌群落之间的相似性,图中横坐标解释了关系值的 16.75%,纵坐标解释了关系值的 10.51%,总解释度为 27.26%(图 4)。分析结果表明:除栀子生境外,其他 3 种生境内的 4 个重复均聚类于同一象限。这说明样本的重复性较好,组内变异相对较小。PC1 可将人工栽培的真菌群落与油茶林、马尾松林明显区分开,PC2 可将马尾松林真菌群落与人工栽培、油茶林明显区分开,人工栽培、油茶林、马尾松林组间差异大于组内差异。

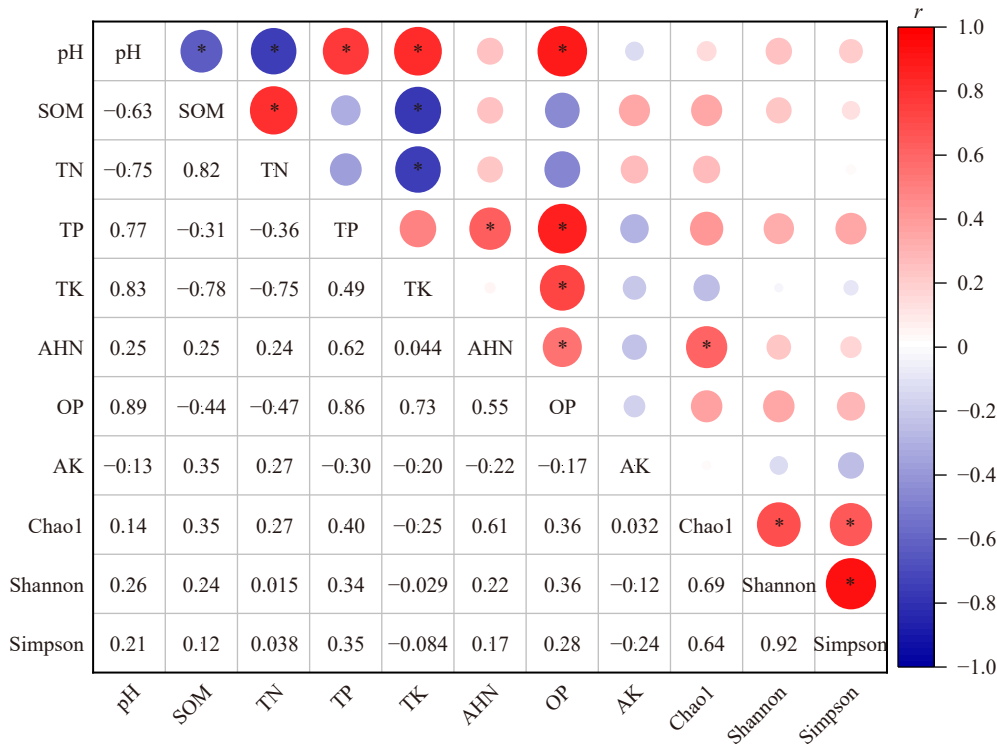
进一步使用 ANOSIM 对人工栽培生境与其他生境群落组成结构进行差异性分析,结果(表 4)表明:人工栽培生境下的土壤真菌群落组成与栀子林、马尾松林、油茶林有显著差异($p < 0.05$),栀子林、马尾松林和油茶林彼此之间根际土壤真菌群落组成差

表 3 土壤真菌 α 多样性指标

Tab. 3 α diversity indexes of soil fungi

| 生境类型 Habitat type | Simpson 指数 Simpson index | Chao 1 指数 Chao 1 index | Shannon 指数 Shannon index | 物种数 Species number | 覆盖率 Coverage |
|--|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------|
| 马尾松林 <i>Pinus massoniana</i> forest | 0.91 ± 0.02a | 894.32 ± 115.93ab | 5.118 ± 0.26a | 629.75 ± 68.76a | 0.992 ± 0.001b |
| 栀子林 <i>Gardenia jasminoides</i> forest | 0.91 ± 0.04a | 969.06 ± 156.74a | 5.349 ± 0.48a | 703.25 ± 87.03a | 0.992 ± 0.001b |
| 油茶林 <i>Camellia oleifera</i> forest | 0.94 ± 0.03a | 907.40 ± 120.43ab | 5.757 ± 0.48a | 660.25 ± 85.92a | 0.993 ± 0.001b |
| 人工栽培 Artificial cultivation | 0.90 ± 0.11a | 706.06 ± 105.96b | 4.510 ± 0.81a | 583.00 ± 117.48a | 0.996 ± 0.003a |

注:不同字母表示组间差异显著($p < 0.05$)。Note: different letters indicate significant difference between treatments ($p < 0.05$).



pH、SOM、TN、TP、TK、AHN、OP、AK 分别代表 pH 值、有机质、全 N、全 P、全 K、碱解 N、有效 P、速效 K。pH, SOM, TN, TP, TK, AHN, OP, AK represent pH value, soil organic matter, total nitrogen, total phosphorus, total potassium, alkaline nitrogen, available phosphorus, and available potassium, respectively.

图3 α多样性指数与土壤环境因子相关性矩阵图

Fig. 3 Correlation matrix diagram among α-diversity indexes and edaphic factors

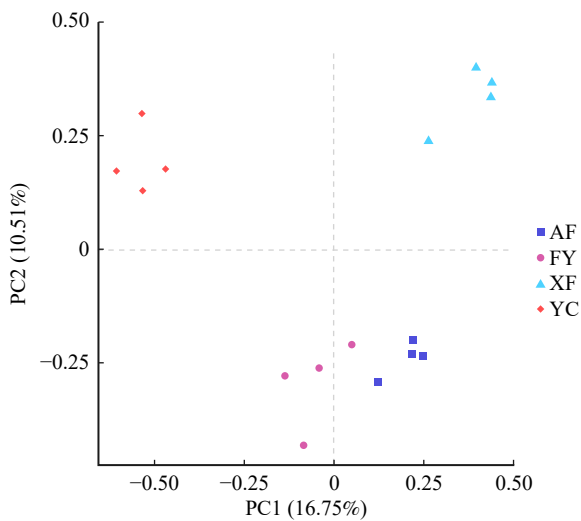


图4 4种生境下根际土壤真菌群落主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of fungal communities in rhizosphere soil of four habitats

异显著 ($p < 0.05$)。

2.4 土壤性质对土壤真菌群落组成的影响

通过 Mantel 分析检验土壤根际真菌群落结构与土壤环境因子间的相关关系, 结果(表 5)表明: 土壤理化性质与土壤真菌存在具有统计学意义的相关性 ($p = 0.009 < 0.05$), 碱解 N 对真菌群落结构的影响最大 ($p = 0.031$), 其次为土壤有机质 ($p = 0.045$)。进

表4 真菌组间群落结构差异显著性检验

Tab. 4 Significance test of community structure between different bacteria groups

| 组 Group | R | p |
|---------|---------|-------|
| YC-AF | 0.729 2 | 0.026 |
| YC-FY | 0.562 5 | 0.032 |
| YC-XF | 0.697 9 | 0.023 |
| AF-FY | 0.791 7 | 0.030 |
| AF-XF | 0.760 4 | 0.033 |
| FY-XF | 0.687 5 | 0.032 |

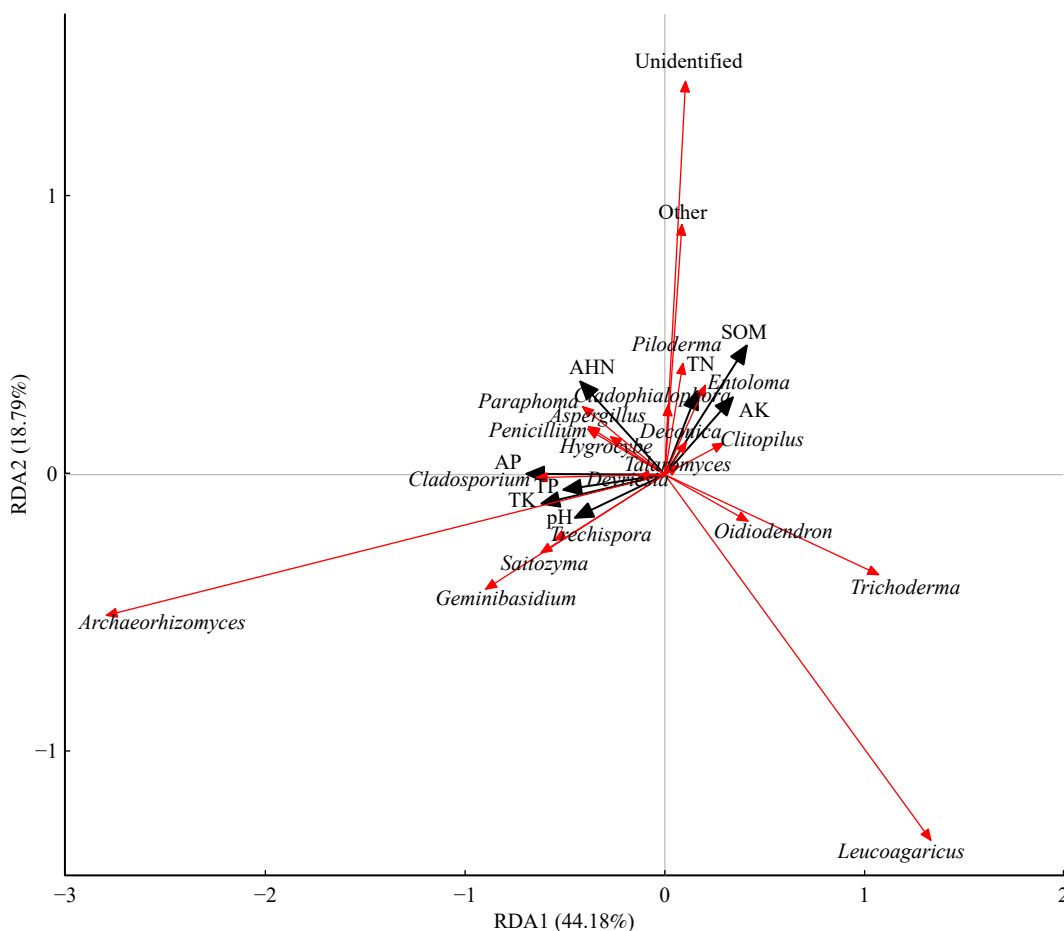
注: R 的范围为 (-1, 1)。R > 0 说明组间差异显著, R < 0 说明组内差异大于组间差异。p < 0.05 表示统计具有显著性。Notes: range of R is (-1, 1). R > 0 indicates significant differences between groups, R < 0 indicates difference within group is greater than that between groups. p < 0.05 indicates statistical significance.

一步将土壤中的优势真菌属与环境因子进行冗余分析(图 5), RDA 的前两轴共解释了 62.97% 的群落变化。第一轴可以解释群落变化的 44.18%, 全 N、有机质与速效 K 与第一排序轴呈正相关, 碱解 N、有效 P, 全 P、全 K 以及 pH 与第一排序呈负相关, 其中有效 P 与第一轴的夹角最小, 相关性最大。第二轴可以解释群落变化的 18.79%, 其中全 N 与第二轴夹角最小, 相关性最大。分析还发现, 土壤优势真菌受多个环境因子的影响, 古根菌属 (*Archaeorhizomyces*) 的分布主要受全 K 的影响, *Saitozyma* 与 pH 值的相

表 5 Mantel 检验真菌群落结构与土壤理化性质的相关性

Tab. 5 Mantel test for correlations between fungal community structure and soil physicochemical properties

| 土壤理化性质 Physicochemical properties of soil | 真菌群落结构 Fungal community structure | |
|--|-----------------------------------|-------|
| | R | p |
| pH | 0.001 | 0.465 |
| 土壤有机质 Soil organic matter (SOM) | 0.190 | 0.045 |
| 全N Total N (TN) | 0.133 | 0.159 |
| 全P Total P (TP) | 0.027 | 0.359 |
| 全K Total K (TK) | 0.105 | 0.162 |
| 碱解N Alkali-hydrolyzable N (AHN) | 0.272 | 0.031 |
| 有效P Available P (AP) | 0.049 | 0.302 |
| 速效K Available K (AK) | 0.204 | 0.100 |
| 总模型 Total model | 0.334 | 0.009 |



为简化处理, 图中仅展示属水平排名前 20 的真菌与土壤性质的关系。To simplify, only the relationship between fungi ranking top 20 at genus level and soil properties are shown in the figure.

图 5 土壤性质与真菌关系 RDA 分析的二维排序

Fig. 5 Two-dimensional ranking of RDA analysis of relationship between soil properties and fungi

关性最大, 碱解 N 是影响白环蘑属 (*Leucoagaricus*) 的主要环境因子。

3 讨 论

对栽培生境和 3 种野生生境下沙氏鹿茸草根际真菌的分析发现, 门分类水平上 4 种生境中优势菌门均为子囊菌门 (*Ascomycota*) 和担子菌门 (*Basidiomycota*), 这与辽东山区落叶松和红松人工

林生境^[15]以及呼伦贝尔沙区裸沙地、草地、樟子松人工林和樟子松天然林生境下^[16]的优势菌门相同, 其中, 马尾松林、油茶林、椴子林 3 种野生生境根际土壤中, 子囊菌门的相对丰度均大于人工栽培, 而担子菌门的相对丰度均小于人工栽培。这可能与两种菌门之间的功能差异有关, 子囊菌门较担子菌门进化速率更快, 耐旱更强^[17], 且多为腐生菌, 在降解复杂有机质起着关键作用^[18], 适于土壤较为贫瘠恶劣的

环境,而担子菌门分解植物残体中的木质纤维素能力更强^[19],更适于含木质纤维较多的环境。马尾松林、柃木林和油茶林均是沙氏鹿茸草野生生存的环境,土壤条件相对贫瘠,且3种野生生境下木质凋落物均较少,人工栽培生境属于杂木林地,砍伐留下的剩余物较多。在属分类水平上,已知属中,马尾松林、油茶林下和柃木林3种野生生境下古根菌属(*Archaeorhizomyces*)相对丰度均较高,而人工栽培的沙氏鹿茸草根际土壤中丰度最高的属为白环蘑属(*Leucoagaricus*),其次为木霉属(*Trichoderma*),古根菌属(*Archaeorhizomyces*)丰度仅有0.16%。研究表明,古根菌属(*Archaeorhizomyces*)是常见陆生好氧真菌^[20],在土壤真菌群落中占比约30%^[21],随水分和孔隙度变化常表现出较高的敏感度^[16],更偏向生长在土质较疏松平的野生生境。相对野生生境,栽培生境土壤易板结,透气性差,酸化程度较重,且土壤中的白环蘑属(*Leucoagaricus*)丰度较高。白环蘑属真菌在森林生态系统中扮演着重要的角色,除可以分解木质素和纤维素外,还可以用于环境监测,作为重金属污染环境的指示生物^[22]。一般情况下,白环蘑属(*Leucoagaricus*)能够促进植物吸收养分,进而促进植物的生长,但当土壤中白环蘑属(*Leucoagaricus*)含量过高时,对植物在一定程度上会起到毒害作用,特别是在酸化的土壤中,而这可能与人工栽培过程中沙氏鹿茸草生长不良和死亡率高有关。进一步用Mantel检验土壤理化性质与土壤真菌群落间的关系发现,碱解N和土壤有机质是驱动真菌群落结构的重要因子,这与吴佳伟等^[23]和杨立宾等^[24]的研究结果大致相同。

真菌不仅仅需要有机碳提供必要的能源物质^[25],并且其生长活性易受N的影响。由于土壤环境的复杂性,再加上药用植物根系本身就具有产生影响微生物群落结构的分泌物,使得不同人员的研究结果并不一致,如:王钰等^[5]认为黄连(*Coptis chinensis*)根际土壤群落结构主要受pH值和有机质的影响,而马少兰等^[26]研究表明土壤pH、硝态N和有效P含量是影响再植枸杞(*Lycium chinense*)根际真菌群落的主要因素。Mantel检验主要从整个根际群落的整体结构来进行分析,而RDA分析能进一步明确优势真菌属与土壤环境间的具体关系,分析发现,在栽培生境下相对丰度最高的白环蘑属(*Leucoagaricus*)与土壤中的碱解N有明显的负相关关系,这意味着土壤中碱解N的含量越少白环蘑属(*Leucoagaricus*)含量就越多,而过多的白环蘑属(*Leucoagaricus*)可能会对植物产生毒害作用,因此人工栽培肥料供应可以从土壤中碱解N含量方面去

考虑。

人工栽培是解决中草药野生资源匮乏的关键措施,而人工栽培模式往往会破坏土壤原有的结构,导致人工栽培生境中土壤真菌发生改变,但是随着时间的推移,真菌的群落结构会趋于稳定^[5]。前期实践发现,相对野生生境,沙氏鹿茸草在人工栽培过程中存在着死亡率高和生长不良等现象,其在不同生境条件下均有较高的死亡率,且栽培成活的沙氏鹿茸草经过两三年的生长依旧会出现生长不良甚至死亡的现象,这可能与沙氏鹿茸草的根际微生物有关。研究表明,根际微生物种群结构及其代谢产物对于改善药用植物营养,调控药用植物生长,抵御病虫害,抗旱等非生物胁迫等方面都有重要的作用^[27],但有些致病菌,例如尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*),能造成植株根部腐烂和全株死亡,且药用植物在栽培过程中极易产生连作效应,即随着年限的增长,根际土壤微生物的多样性逐渐单一,植株抗逆能力下降的现象^[28]。研究发现,从根际土壤中分离出的荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)对贯叶连翘(*Hypericum perforatum*)的生长、金丝桃素的分泌起到了促进作用^[29];同样,圆褐固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)可以提高黄花蒿(*Artemisia annua*)的生物量和青蒿素的含量^[30],而丛枝菌根(*Arbuscular mycorrhizal*)真菌也可显著提高黄花蒿的青蒿素和挥发油的含量^[31]。因此,通过根际微生物的提取和回接可达到促进药用植物生长的作用。本研究中,通过对比野生和栽培生境下的沙氏鹿茸草土壤真菌群落,发现古根菌属(*Archaeorhizomyces*)和白环蘑属(*Leucoagaricus*)是两种生境差异的关键,这两者是如何影响沙氏鹿茸草存活和生长的机制尚不清楚,后续应通过根际真菌的分离与菌液回施来找出促进和抑制沙氏鹿茸草生长发育的关键菌种。在人工栽培过程中,施肥也是最常见的措施,土壤微生物群落不仅仅与植物类型,还与施肥有关。相关研究表明,施N使得富养性的变形菌门(*Proteobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)丰度增加^[32],而施用有机肥增加了有益微生物 *Trichoderma*(木霉属)、*Hypoxylon*(炭团菌属)、*Tritirachium*(麦轴梗霉属)的丰度^[33]。本研究中,碱解N是驱动沙氏鹿茸草根际真菌群落结构的重要因子,而作为栽培生境中丰度最高的白环蘑属(*Leucoagaricus*)与碱解N有明显的负相关,因此,可尝试通过施肥方式来控制土壤真菌群落促进沙氏鹿茸草的生长发育。本研究是在团队突破了沙氏鹿茸草组培快繁技术体系^[34-35]及确定了其药用成分的最佳产地^[36]的基础上,进一步对栽培和野生生境下的土壤根际真菌群落进行分析,并且发现了不

同生境下真菌群落有明显的差异, 说明根际真菌群落可能会间接影响鹿茸草药用成分的形成, 这为筛选合适菌种提供了初步理论基础, 未来需进一步的探讨根际生物群落影响药用成分的机制。另一方面, 肥料中 N、P、K 等营养元素是影响根际微生物群落组成变化的重要因素, 不同真菌属种对营养元素的敏感性不同。因此, 在今后的人工栽培中, 结合真菌属种的特性来优化施肥体系是促进沙氏鹿茸草生长和提高药用成分含量的有效措施。

4 结 论

针对沙氏鹿茸草野外人工栽培生长不良的现象, 首次探究了其野外人工栽培和野生生境下土壤真菌群落多样性及结构差异, 并确定了不同生境下的优势菌属, 为沙氏鹿茸草的人工栽培提供了理论基础。研究结论主要有以下两点。

(1) 人工栽培生境下沙氏鹿茸草土壤根际真菌群落组成与野生生境下有显著差异, 野生与栽培生境下的优势真菌门均为子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota); 马尾松林和油茶林下沙氏鹿茸草根际土壤中优势属均是古根霉属(*Archaeorhizomyces*), 榧子林根际土壤中优势菌属为 *Saitozyma*, 人工栽培生境下优势菌属为白环蘑属(*Leucoagaricus*)。

(2) 真菌群落结构主要受土壤碱解 N 和有机质的影响, 同时碱解 N 也是影响白环蘑属(*Leucoagaricus*) 的主要环境因子, 因此, 可通过施肥等措施人工调控土壤中 N 含量以控制真菌群落, 进而影响沙氏鹿茸草的生长。

研究确定了古根霉属(*Archaeorhizomyces*)和白环蘑属(*Leucoagaricus*)是两种生境差异的关键, 但这两者是如何影响沙氏鹿茸草存活和生长的机制尚不清楚。后续可以通过根际优势真菌的分离和菌液回施探寻促进沙氏鹿茸草生长发育和提高药用成分含量的关键菌种, 同时可根据真菌属种对营养元素的敏感性不同来优化施肥体系。

参 考 文 献

- [1] 苏州医学院. 中药大辞典 [M]. 下册. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
Suzhou Medical College. Dictionary of traditional chinese medicine [M]. Vol. 2. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1997.
- [2] Chen L, Zhu Z, Guo Q, et al. Growth response of *Monochasma savatieri* to nitrogen, phosphorus, and potassium in the absence of a host plant: essential demand for nutrients of root hemiparasitic plants[J]. Journal of Plant Nutrition, 2020, 43(3): 444–455.
- [3] 夏晨, 郭鑫, 冯慧, 等. 鹿茸草的物候与生长更新特征 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(27): 1–2.
- Xia C, Guo X, Feng H, et al. Analysis of phenophase and regeneration characteristics of *Monochasma shearerii* Maxim.[J]. Anhui Agricultural Science, 2018, 46(27): 1–2.
- [4] Zhang Y Y, Chen Y L, Zhang X H, et al. Adventitious shoot induction from internode and root explants in a semiparasitic herb *Monochasma savatieri* Franch ex Maxim[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2017, 36(3): 799–804.
- [5] 王钰, 谭均, 伍晓丽, 等. 自然林和人工搭棚种植模式下黄连根际土壤真菌群落结构变化 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5160–5168.
Wang Y, Tan J, Wu X L, et al. Variation in fungal community structures in rhizosphere soil of *Coptis chinensis* with cropping mode under natural forest and artificial shed[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(21): 5160–5168.
- [6] 何苑峰, 周国英, 王圣洁, 等. 杉木人工林土壤真菌遗传多样性 [J]. 生态学报, 2014, 34(10): 2725–2736.
He Y H, Zhou G Y, Wang S J, et al. Fungal diversity in *Cunninghamia lanceolata* plantation soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(10): 2725–2736.
- [7] Brzostek E R, Greco A, Drake J E, et al. Root carbon inputs to the rhizosphere stimulate extracellular enzyme activity and increase nitrogen availability in temperate forest soils[J]. Biogeochemistry, 2013, 115(1–3): 65–76.
- [8] Razavi B S, Zarebanadkouki M, Blagodataskaya E, et al. Rhizosphere shape of lentil and maize: spatial distribution of enzyme activities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 96: 229–237.
- [9] Nicosia M G L D, Mosca S, Mercurio R, et al. Dieback of *Pinus nigra* seedlings caused by a strain of *Trichoderma viride*[J]. Plant Disease, 2015, 99(1): 44–49.
- [10] McGuire K L, Bent E, Borneman J, et al. Functional diversity in resource use by fungi[J]. Ecology, 2010, 91(8): 2324–2332.
- [11] Shen Q, Yang J, Su D, et al. Comparative analysis of fungal diversity in rhizospheric soil from wild and reintroduced *Magnolia sinica* estimated via high-throughput sequencing[J]. Plants, 2020, 9(5): 600.
- [12] Kushwaha R K, Rodrigues V, Kumar V, et al. (2020). Soil microbes-medicinal plants interactions: ecological diversity and future prospect[C]//Varma A, Tripathi S, Prasad R. Plant microbe symbiosis. New York: Springer, Cham.
- [13] 郭军. 土壤含水量和丛枝菌根对沙氏鹿茸草生长影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
Guo J. Effect of soil moisture content and arbuscular mycorrhizal symbiosis on the growth of *Monochasma savatieri* franch[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [14] 杜森, 高祥照. 土壤分析技术规范 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
Du S, Gao X Z. Technical specifications for soil analysis [M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2006.
- [15] 邓娇娇, 周永斌, 殷有, 等. 辽东山区两种针叶人工林土壤真菌群落结构特征 [J]. 北京林业大学学报, 2019, 41(9): 130–138.
Deng J J, Zhou Y B, Yin Y, et al. Characteristics of soil fungal community structure at two coniferous plantations in mountainous

- region of eastern Liaoning Province, northeastern China[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41(9): 130–138.
- [16] 曹红雨, 高广磊, 丁国栋, 等. 呼伦贝尔沙区4种生境土壤真菌群落结构和多样性[J]. 林业科学, 2019, 55(8): 118–127.
Cao H Y, Gao G L, Ding G D, et al. Community structure and diversity of soil fungi in four habitats in Hulun Buir Sandy Land[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2019, 55(8): 118–127.
- [17] Rainey F A, Ray K, Ferreira M, et al. Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(9): 5225–5235.
- [18] Beimforde C, Feldberg K, Nylander S, et al. Estimating the phanerozoic history of the ascomycota lineages: combining fossil and molecular data[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2014, 78: 386–398.
- [19] Frey S D, Knorr M, Parrent J L, et al. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests[J]. Forest Ecology and Management, 2004, 196(1): 159–171.
- [20] Peralta A L, Matthews J W, Flanagan D N, et al. Environmental factors at dissimilar spatial scales influence plant and microbial communities in restored wetlands[J]. Wetlands, 2012, 32(6): 1125–1134.
- [21] Menkis A, Urbina H, James T Y, et al. *Archaeorhizomyces borealis* sp. nov. and a sequence-based classification of related soil fungal species[J]. Fungal Biology, 2014, 118(12): 943–955.
- [22] Vellinga E C. Ecology and distribution of lepiotaceae fungi (Agaricaceae): a review[J]. Nova Hedwigia, 2004, 78(3): 273–300.
- [23] 吴佳伟, 杨瑞, 王勇, 等. 贵州草海流域三种不同植被类型根际土壤真菌结构组成和多样性[J]. 菌物学报, 2020, 39(7): 1250–1262.
Wu J W, Yang R, Wang Y, et al. Community and diversity of rhizosphere soil fungi in three different vegetation types in Caohai Basin, Guizhou Province[J]. Mycosystema, 2020, 39(7): 1250–1262.
- [24] 杨立宾, 隋心, 魏丹, 等. 大兴安岭棕色针叶林土壤的真菌多样性[J]. 应用生态学报, 2019, 30(10): 3411–3418.
Yang L B, Sui X, Wei D, et al. Fungal diversity in the brown coniferous forest soils of Daxing'anling Mountains, Northeast China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(10): 3411–3418.
- [25] Griffiths B S, Ritz K, Ebbelwhite N. Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 31(1): 145–153.
- [26] 马少兰, 马彩霞, 徐鹏鑫, 等. 再植枸杞根际真菌群落对长期连作的响应研究[J]. 土壤学报, 2019, 56(6): 1493–1503.
Ma S L, Ma C X, Xu P X, et al. Effects of long-term monocropping of *Lycium barbarum* L. on function and composition of fungal community in rhizosphere of replanted *Lycium barbarum* L.[J]. Acta Pedologica Sinica, 2019, 56(6): 1493–1503.
- [27] 彭政, 郭秀芝, 徐扬, 等. 药用植物与根际微生物互作的作用与展望[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 2023–2030.
Peng Z, Guo X Z, Xu Y, et al. Advances in interaction between medicinal plants and rhizosphere microorganisms[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(9): 2023–2030.
- [28] 章云云, 朱端卫, 王晓, 等. 植物根系分泌物的作用及其与药用植物连作障碍的关系[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(6): 1241–1245.
Zhang Y Y, Zhu D W, Wang X, et al. Properties of plant root exudates and its obstacles for continuous cropping of medicinal plants[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2014, 53(6): 1241–1245.
- [29] Mañero F J G, Algar E, Martin G M S, et al. Elicitation of secondary metabolism in *Hypericum perforatum* by rhizosphere bacteria and derived elicitors in seedlings and shoot cultures[J]. Pharmaceutical Biology, 2012, 50(10): 1201–1209.
- [30] Arora M, Saxena P, Choudhary D K, et al. Dual symbiosis between *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* enhances the artemisinin content in *Artemisia annua* L.[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(2): 1–10.
- [31] 黄京华, 谭钜发, 揭红科, 等. 丛枝菌根真菌对黄花蒿生长及药效成分的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(6): 1443–1449.
Huang J H, Tan J F, Jie H K, et al. Effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi on *Artemisia annua* growth and its officinal components[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(6): 1443–1449.
- [32] 董林林, 牛玮浩, 王瑞, 等. 人参根际真菌群落多样性及组成的变化[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 443–449.
Dong L L, Niu W H, Wang R, et al. Changes of diversity and composition of fungal communities in rhizosphere of *Panax ginseng*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(3): 443–449.
- [33] Qiu M, Zhang R, Xue C, et al. Application of bio-organic fertilizer can control *Fusarium* wilt of cucumber plants by regulating microbial community of rhizosphere soil[J]. Biology and Fertility of Soils, 2012, 48(7): 807–816.
- [34] 李峰卿, 刘素贞, 唐艳, 等. 不同产地沙氏鹿茸草全株中黄酮类和苯乙醇苷类成分含量的比较[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(3): 78–80.
Li F Q, Liu S Z, Tang Y, et al. Comparison on contents of flavonoids and phenylethanoid glycosides in whole plant of *Monochasma savatieri* from different locations[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2021, 30(3): 78–80.
- [35] Li F Q, Liu S Z, Zeng M S. An efficient micropropagation protocol for *Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim through seed germination and direct shoot regeneration[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2021, 57(1): 30–38.
- [36] 唐艳, 刘素贞, 吴昌龙, 等. 鹿茸草组培苗生根培养体系的优化[J]. 分子植物育种, 2022, 20(19): 6433–6440.
Tang Y, Liu S Z, Wu C L, et al. Optimization of rooting medium for in vitro shoots in *Monochasma savatieri*[J]. Molecular Plant Breeding, 2022, 20(19): 6433–6440.

(责任编辑 吴娟
责任编辑 董世魁)